نشریه دامپزشکی
(پژوهش و سازندگی)
شماره ۹۴، بهار ۱۳۹۱

# تأثیر غوطه وری در عصاره آب گرم جلبک *Sargassum glaucescens* بر بازماندگی و برخی از فاکتورهای ایمنی در میگوی سفید هندی

• **بابک قائدنیا** (نویسنده مسئول)
پژوهشکده میگوی کشور، بوشهر
• **مریم میربخش**
پژوهشکده میگوی کشور، بوشهر
• **وحید یگانه**
پژوهشکده میگوی کشور، بوشهر
• **محمد رضا مهرابی**
مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران
تاریخ دریافت: آذر ماه ۱۳۸۷ تاریخ پذیرش: فروردین ماه ۱۳۹۱
تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۷۳۷۱۳۸۱۸
Email: babak.ghaednia@gmail.com

## چکیده

**در ایـن مطالعـه جلبک قهوه ای *Sargassum glaucescens*،که در خلیج فارس و سـواحل اسـتان بوشـهر بـه وفور یافت می شـود، جمع آوری گردید و پس از عصاره گیری با آب داغ، اقدام به لئوفلیزه کردن عصاره حاصل گردید. برای بررسـی تاثیر هر یـک از غلظت های جلبک نامبرده بر میگوهای سـفید هندی(۱/۲۰±۱۱/۳۲ گرمی) پس از دو هفته اسـترس زدایی در ایسـتگاه تحقیقاتی شغاب وابسته به پژوهشکده میگوی کشور، در آب دریای (با شوری ppt ۳۹ و دمای ۱± ۲۵ درجه سانتی گراد) حاوی غلظت های ۱۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر از عصاره جلبک ، غوطه ور شد و میزان پیشگیری از بیماری لکه سفید و فاکتورهای ایمنی (تعداد هموسـیت کل(THC)، میزان پروتئین پلاسـمای کل(TPP)، فعالیت فاگوسـیتی) در میگوهای سفید هندی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که غوطه ور ساختن میگوهای سفید هندی در ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره آب گرم جلبک *S.glaucescens* به مدت ۲ الی ۳ ساعت، در افزایش THC، TPP و فعالیت فاگوسیتوزی مؤثر می باشـد. علاوه بر این غوطه وری به مدت ۳ سـاعت در آب دریای حاوی ۱۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر از عصاره آب گرم جلبک *S.glaucescens*، در افزایش میزان بازماندگی میگوهای سفید هندی موثر بود.**

**کلمات کلیدی: جلبک قهوه ای، *Sargassum glaucescens*، میگوی سـفید هندی، بیماری لکه سـفید، تعداد هموسـیت کل، پروتئین کل پلاسما، فعالیت فاگوسیتوزی**

www.SID.ir

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 94 pp: 1-10

**Effect of hot water extraction of *Sargassum glaucescens* algae in prevention of White Spot Disease in *Fenneropenaeus indicus*.**

*By: Babak Ghaednia, Health and Diseases of Shrimp Dep., Iran Shrimp Research Center, Bushehr, Iran (Corresponding Author; Tel: +989173713818) Maryam Mirbakhsh, and Mohammad Health and Diseases of Shrimp Dep., Iran Shrimp Research Center, Bushehr, Iran Reza Mehrabi, Health and Diseases of Aquatic Animals Dep. Iranian Fisheries Organization, Tehran, Iran*

In this study brown algae, *Sargassum glaucescens* and that found plenteously in Persian Gulf and Bushehr coast, were collected and hot water extracts of them were lyophilized. F. indicus (11.32±1.20 g), after two weeks adaptation in Shoghab research station dependent to Iran Shrimp Research Center, ISRC, were immersed in seawater (39 ppt and 25±1 C°) containing hot-water extract of brown algae, *S.glaucescens*, at 100, 300 and 500 mg/l concentration, prevention of White Spot Disease and immunological parameters (total haemocyte count (THC), total plasma protein (TPP) and Phagocytic activity) were examined. According to results, immersion in seawater containing 300 and 500 mg/l concentration of algal hot-water extract after 2 and 3 hours significantly enhanced THC, TPP and Phagocytic activity. Immersion in seawater containing 100, 300 and 500 mg/l hot-water extract of *S.glaucescens* after 3 hours, improved the survival rate of WSSV-infected *F. indicus*.

**Key words:** Algae, Sargassum glaucescens, White Spot Disease

## مقدمه

میزان برداشت میگوی پرورشی استان بوشهراز سال ۱۳۷۴ لغایت ۱۳۸۳ از رشد مناسبی برخوردار بوده است، بطوری که در سال ۱۳۸۳ به ۵۶۰۰ تن رسید. میانگین وزنی اعلام شده تقریباً ۱۷ الی ۱۸ گرم بوده است که ارزش اقتصادی آن بالغ بر ۱۶۰ هزار میلیارد ریال می باشد، ولی در سال ۱۳۸۴ به دلیل بروز و شیوع بیماری لکه سفید (WSD) به حدود ۵۰۰ تن رسیده است و ارزش اقتصادی آن به حدود ۹۰ میلیارد ریال کاهش یافت.

این آمار ضرورت توجه بیشتر به بیماری ها و انجام طرح های تحقیقاتی در این زمینه را توجیه می نماید. هم اکنون تمامی بررسی های انجام گرفته در زمینه بیماری لکه سفید، لزوم بکارگیری ابزارهای مدیریتی پیشگیرانه را برای کنترل آن و سایر بیماری ها خاطر نشان می سازد. مدیریت بیماری، معضل عمده بر سر راه پایداری صنعت تکثیر و پرورش میگو است. اگربناست صنعت پرورش میگو به رشد و پویائی خود ادامه دهد باید برای کنترل بیماری ها، جایگاه ویژه ای قائل بود. راهبردهای مدیریتی کارآمد ونوآور و پرورش با تمهید ابزارهای خاص مدیریتی، نقش بسیارمهمی را در حصول این مهم ایفا می نماید. از دیدگاه مدیریتی، همواره پیشگیری از بیماری ها، بهتر از تلاش برای مبارزه و درمان آنها پس از وقوع است. غالباً قصور در انجام پیشگیری های ساده برای جلوگیری از عوامل بیماری زا، سبب بروز فجایع و مشکلات لاینحل می شود. مطالعات بسیار وسیعی بر روی سیستم ایمنی مهره داران صورت گرفته است که منجر به شناسایی انواع سلول های خونی و دسته بندی های گوناگون بر اساس کارآیی های ایمونولوژیک و یا مورفولوژیک شده است. علاوه بر این جداسازی، خالص سازی و شناسایی پروتئین های دفاعی، بسیاری از عملکردهای سیستم ایمنی را روشن ساخته است. در مقابل، تنوع بسیار زیاد بی مهرگان و دانش اندک ما در زمینه مکانیسم های دفاعی و کارایی هموسیت های آنها موجب شده است که دسته بندی هموسیت ها بر اساس مرفولوژی آنها (به گونه ای که مؤید دانسته های ما از فیلوژنی بی مهرگان می باشد) کاری غیرممکن بنماید. افزون بر این، هموسیت ها، سلولهای بسیار فعالی بوده و پس از خارج شدن از هموکل (haemocoal) تغییرات قابل ملاحظه ای در آنها رخ می دهد (Bauchau، ۱۹۸۱)، لذا مطالعه و شناسایی این سلول ها بسیار مشکل تر از بررسی عملکرد سلول های خونی مهره داران می باشد. فعال شدن هموسیت ها موجب لخته شدن سریع، دگرانوله شدن سلولی آنها، فعال شدن سیستم proPo و به دنبال آن تولید مولکول های متصل شونده می گردد (Soderhall و Cerenius، ۱۹۹۲). ناپایدار بودن و اندک بودن، بسیاری از پروتیئن های دفاعی بی مهرگان، کار جداسازی یک پروتیئن خاص از سیستم دفاعی را بسیار مشکل می نماید (Soderhal و همکاران ۱۹۹۰).

انتخاب یک ترکیب مناسب با خاصیت تحریک کنندگی سیستم ایمنی کاری بسیار دشواری بوده و مطالعات علمی نیز بندرت اطلاعات جامع و کاملی جهت برنامه ریزی مناسب در این خصوص در اختیار محققان قرار می دهند. بنابراین می توان چنین استدلال کرد که کلید حل این مشکل توجه کردن به دانش موجود در مورد محرک های ایمنی غیر اختصاصی است که به عنوان ادجوانت (یاور) برای مهره داران عالی تر مورد بررسی می باشد یا اینکه باید به واکنشگرهایی که در شرایط آزمایشگاهی توان آنها در تحریک سیستم ایمنی اثبات شده است متوسل شد. نکته ای نیز که باید بیشتر از سایر موارد در نظر گرفت یک تحریک کننده مناسب باید به راحتی استفاده شود، موثر باشد و سمیت آن نیز برای میزبان اندک باشد (Raa و همکاران۱۹۹۲).

## مواد و روش ها

یکی از مشکلات عمده بر سر راه مطالعه روش های مورد استفاده جهت بهبود مقاومت میگو در شرایط و تیمارهای مختلف، انتخاب فاکتورهای

Archive of SID



www.SID.ir

مناسب جهت تعیین کمی سلامت میگو است. در این مطالعه دو فاکتور هموسیت کل (THC) و میزان پرو تئین پلاسمای کل (TPP) به عنوان شاخص سلامتی میگو در نظر گرفته شده است (Sanchez و همکاران ۲۰۰۱). در این مطالعه سعی بر این بوده است که تأثیر یا تأثیرات حاصل از استفاده از یک محرک سیستم ایمنی برای افزایش توانایی جلوگیری از بروز بیماری، علاوه بر روش مواجه با عامل بیماری زا و بررسی میزان بازماندگی، از طریق اندازه گیری یا تعیین شاخص سلامتی در میگوهای تیمار شده نیز ارزیابی گردد.

### تهیه عصاره جلبک *S.glaucescence*

برای این منظور مراحل زیر انجام گرفت:

۱) جمع آوری و شناسایی جلبک در حد گونه، این کار در اواسط بهمن ماه سال ۱۳۸۴ به کمک قایق صورت پذیرفت و جلبک *S.glaucescence* (شکل ۱) از منطقه ساحلی بین اسکله جفره و اسکله جلالی جمع آوری شده و در ظروف و کیسه های پلاستیکی تمیز به آزمایشگاه میکروب شناسی پژوهشکده میگوی کشور منتقل گردید. علاوه بر این از جلبک جمع آوری شده، نمونه ای تهیه شد و جهت تأیید گونه به پژوهشکده آب های دور، چابهار، ارسال گردید.

۲) شستشو و خشک کردن در دمای اتاق، جلبک های منتقل شده به آزمایشگاه میکروب شناسی پژوهشکده میگوی کشور در ابتدا با آب جاری شسته شد و بر ر وی نایلون تمیزی که از قبل در آزمایشگاه پهن شده بود به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند تا کاملا خشک شوند. لازم به ذکر است که با توجه به وجود ترکیبات سرب در روزنامه های موجود و امکان ایجاد خطا در آزمایش، جلبک های جمع آوری شده پس از شستشو، به منظور خشک شدن، بر روی نایلون قرار داده شدند.

۳) جوشاندن ۲۰ گرم از جلبک های خشک شده در ۳۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه به مدت سه ساعت، با توجه به لزوم لئوفلیزه کردن عصاره استخراج شده در آزمایشگاه بهار افشان تهران و به منظور جلوگیری از هر گونه تغییر احتمالی در ترکیبات استخراج شده، از این مرحله به بعد در آزمایشگاه مذکور در تهران انجام شد تا بتوان پس از عصاره گیری سریعاً نسبت به لئو فلیزه کردن عصاره حاصل اقدام نمود. برای فیلتر کردن عصاره حاصل از گاز استریل استفاده شد.

۴) با توجه به توانایی جذب و تجمیع بیولژیک فلزات سنگین توسط جلبک ها (Barkhordar و Ghiassedin، ۲۰۰۴) و تأثیرات منفی اثبات شده فلزات سنگین مثل سرب، مس، کادمیوم و جیوه بر سیستم های ایمنی میگو (Lorenzon و همکاران ۲۰۰۱)، به منظور اندازه گیر ی میزان سرب در عصاره های استخراج شده، پس از عصاره گیری و فیلتراسیون، نمونه ای تهیه گردید و توسط بخش مربوطه در همان آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت.

۵) لئوفلیزه کردن عصاره فیلتر شده برای تهیه پودر خشک از عصاره جلبکی

### روش تهیه ویروس و مواجهه

از میگو های تلف شده بر اثر بیماری لکه سفید (که پس از انجام تست PCR، منجمد شده اند) برای آلوده کردن میگو ها استفاده گردید، برای تهیه سوسپانسیون ویروسی، میگوهای ذکر شده در ابتدا یخ زدایی می شدند و پس از هموژنیزه کردن عضله میگو های ذکر شده، با استفاده از فیلتر میلی پور ۰/۴۵ میکرونی فیلتر می شدند. به منظور فعال کردن ویروس موجود در لاشه های فریز شده، به میزان ۰/۱ میلی لیتر از سوسپانسیون ویروسی تهیه شده در ابتدا به تعدادی از میگو ها تزریق می شد و در صورت مشاهده تلفات در این میگو ها، از لاشه این میگو ها برای تهیه سوسپانسیون ویروسی جهت تزریق به میگوهای تیماربندی شده استفاده می گردید.

شکل ۱- جلبک *S.glaucescence*


www.SID.ir
Archive of SID

**بررسی تأثیر غوطه وری در عصاره آب گرم جلبک، بر میزان بازماندگی میگوها**

۵۰۰ قطعه میگوی سفید هندی ۱/۲۰ ± ۱۱/ ۳۲ گرمی از مزارع پرورش میگو به ایستگاه تحقیقاتی شغاب وابسته به پژوهشکده میگوی کشور انتقال یافت و در تانک های چهار هزار لیتری به مدت دو هفته آداپتاسیون و استرس زدایی شدند. با توجه به تغییرات فیزیولوژیک در هنگام پوست اندازی و تأثیر پذیری سیستم ایمنی از این تغییرات، در این بخش از مطالعه، میگو هایی که در مرحله بین دو پوست اندازی، مرحله C (بر اساس روش Promwikorn و همکاران، ۲۰۰۴)، بودند انتخاب شدند و برای انجام تیمارهای مورد نظر (جدول ۱) به تانک های ۳۰۰ لیتری که حاوی ۱۵۰ لیتر آب دریا بودند انتقال یافتند.

در هر تیمار، میگوها به مدت ۳ ساعت در غلظت های ذکر شده غوطه ور شدند و سپس از میگوهای تلف شده در اثر بیماری لکه سفید (WSD) برای آلوده کردن میگوها استفاده می شد.

بررسی تأثیر غلظت های مختلف جلبک بر شاخصهای ایمنی میگوها

با توجه به حساس بودن سیستم ایمنی و تأثیر استرس های گوناگون بر روی عملکرد این سیستم، تیمارهای مربوط به تعیین یا اندازه گیری فاکتورهای سیستم های ایمنی، در آزمایشگاه و در آکواریوم های ۱۵۰ لیتری که حاوی ۱۰۰ لیتر آب دریا بودند، طبق جدول ۲ انجام گرفت. پس از گذشت صفر ۱، ۲، ۳ و ۴ ساعت پس از آغاز غوطه وری، اقدام به آسپیراسیون همولنف و اضافه کردن ترکیب ضد انعقاد گردید و فاکتورهای تعداد هموسیت کل (THC)، میزان پروتئین پلاسمای کل (TPP) و فعالیت فاگوسیتی (PA) هموسیت ها تعیین و اندازه گیری شد.

برای تعیین THC، از سینوس شکمی و از بند دوم نسبت به نمونه برداری همولنف اقدام شد. برای این منظور از سرنگ ۱ میلی لیتر که حاوی ۰/۴ میلی لیتر ضدانعقاد (محلول Alsever) با دمای۴ درجه سانتی گراد و pH ۷/۲ بود (Jiang و همکاران ۲۰۰۴) استفاده گردید.

پس از نمونه برداری محتویات سرنگ به اپندروف مخصوص سانتریفیوژ که از قبل حاوی ۰/۴ میلی لیتر ضد انعقاد بود انتقال می یافت و ۲۵ میکرولیتر از این سوسپانسیون بر روی لام هموسیتومتر قرار می گرفت و با بزرگنمایی ×۴۰ شمارش می شد. همولنف باقی مانده در اپندورف ها تا ۱ ساعت پس از نمونه برداری در یخ قابل نگهداری بوده و از آن برای اندازه گیری TPP فعالیت فاگوسیتی استفاده می شد. برای اندازه گیری TPP نیز از روش روتین Biuret که برای اندازه گیری میزان پروتئین در مایعات بدن، درآزمایشگاه های تشخیص طبی نیز استفاده می شود بهره گرفته شد (Acharya و همکاران ۲۰۰۴).

به منظور اندازه گیری فعالیت فاگوسیتوزی ۲۵ میکرولیتر از همولنف آماده سازی شده در اپندروف را بر روی اسلاید شیشه ای تمیز انتقال داده و ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. سپس ۲۵ میکرولیتر باکتری Vibrio harveyi به غلظت ۱۰۸× ۱ سلول در میلی لیتر به اسلاید اضافه گردید و ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. سپس اسلایدها را با آنتی کواگولانت شستشو داده و با گلوتارآلدئید ۴ درصد در محلول ضد انعقاد، به مدت ۱ دقیقه تثبیت شد. در مرحله بعد اسلایدها به مدت ۱ دقیقه با آب مقطر شستشو داده شد و با اتانل مطلق به مدت ۱ دقیقه تثبیت گردید. اسلایدها را در مجاورت هوا خشک کرده و سپس با تولوئیدن بلو به مدت ۵ دقیقه رنگ آمیزی کرده و رنگ اضافه با آب جاری حذف گردید. پس از این مراحل اسلاید ها با کمک میکروسکوپ نوری و با بزرگنمایی ×۱۰۰ مورد مطالعه قرارگرفته و ۲۰۰ هموسیت شمارش شد و تعداد هموسیت هایی که باکتری را هضم کرده اند، ثبت شد (Jiang و همکاران ۲۰۰۴؛ Lui و همکاران ۲۰۰۴). درصد فاگوسیتوز از فرمول زیر محاسبه گردید:

درصد فاگوسیتوز= (تعداد هموسیت هایی که باکتری ها را هضم کرده اند تقسیم برتعداد کل هموسیهای مشاهده شده) × ۱۰۰

داده های ثبت شده با نرم افزار SPSS و به روش آنالیز واریانس دوطرفه مورد بررسی قرار گرفت.

Archive of SID

جدول ۱- تیمارهای مربوط به بررسی تأثیر غوطه وری در مقادیر مختلف عصاره آب گرم جلبک های مورد مطالعه و مواجهه یا عدم مواجهه با ویروس لکه سفید

| مواجهه با ویروس | عصاره آب گرم جلبک mg/l | تعداد میگو |
|---|---|---|
| منفی | شاهد | ۳ × ۱۰ |
| مثبت | شاهد | ۳ × ۱۰ |
| مثبت | ۱۰۰ | ۳ × ۱۰ |
| مثبت | ۳۰۰ | ۳ × ۱۰ |
| مثبت | ۵۰۰ | ۳ × ۱۰ |


نشریه دامپزشکی www.SID.ir

جدول ۲- تیمارهای مربوط به بررسی تاثیر غوطه وری درغلظتهای مختلف هر یک از جلبکها بر پارامترهای سیستم ایمنی میگو

| غوطه ور شدن در عصاره آب گرم جلبک mg/l | تعداد میگو |
|---|---|
| شاهد | ۳ × ۱۰ |
| ۱۰۰ | ۳ × ۱۰ |
| ۳۰۰ | ۳ × ۱۰ |
| ۵۰۰ | ۳ × ۱۰ |

## نتایج

میزان THC و TPP در میگوهای غوطه ور شده در غلظت ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر از عصاره آب گرم جلبک *S.glaucescens* پس از ۱ ساعت و در مورد تیمار غوطه وری در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر پس از گذشت ۲ ساعت، افزایش معنی داری ($p<۰/۰۵$) را نسبت به میگوهای شاهد نشان دادند(جدول های ۳ و ۴ ونمودارهای شماره ۱ و ۲). فعالیت فاگوسیتوزی (جدول ۵ و نمودار ۳) در میگوهای سفید هندی غوطه ور شده در غلظت ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر از عصاره آب گرم جلبک *S.glaucescens* پس از ۲ ساعت و در مورد تیمار غوطه وری در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر پس از گذشت ۳ ساعت، افزایش معنی داری ($p<۰/۰۵$) را نسبت به میگوهای شاهد نشان داد.

در میگوهای گروه شاهد منفی و مثبت و همچنین میگوهای تیمار شده، که به مدت ۳ ساعت در غلظت های ۱۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر از عصاره آب گرم جلبک *S. glaucescens* غوطه ور شدند و در پایان این مدت ۰/۱ میلی لیتر از سوسپانسیون ویروسی به هر میگو تزریق شد (به غیر از گروه شاهد منفی که بجای سوسپانسیون ویروسی سرم فیزیولوژی در یافت نمودند)، در پایان دوره ۱۴ روزه پس از تزریق، میانگین بازماندگی به ترتیب به ۵/۸±۹۶/۷، ۱۰±۴۰، ۵/۸±۶۳/۳، ۱۰±۸۰ و ۵/۸±۷۶/۷ درصد رسید. آنالیز ANOVA یک طرفه در هفته اولِ پس از تزریق سوسپانسیون ویروسی اختلاف معنی داری را نشان نداد ولی در پایان هفته دوم اختلاف معنی داری را بین گروه شاهد مثبت و منفی ($df = ۱۴، p < ۰/۰۰۱$) نشان داد. در پایان هفته دوم پس از تزریق سوسپانسیون ویروسی، میانگین بازماندگی در میگوهای شاهد مثبت با میگوهای تیمار ۱۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره جلبک ($df = ۱۴، p = ۰/۰۲۷$)، تیمار ۲۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره جلبک ($df = ۱۴، p = ۰/۰۰۱$) و تیمار ۵۰۰ میلی گرم در لیتر جلبک ($df = ۱۴، p = ۰/۰۰۳$) اختلاف معنی داری را نشان داد (جدول ۶).

## بحث

تحریک کننده های سیستم ایمنی ترکیبات شیمیایی هستند که هموسیت ها را فعال کرده و بنابراین جانوران را در برابر عفونت های ایجاد شده توسط ویروس ها، باکتری ها، قارچ ها و انگل ها مقاوم می نماید (Bachère، ۲۰۰۰). همزمان با افزایش دانش ما در مورد رابطه بین شرایط محیطی و بیماری، سیستم های مدیریتی اهمیت بیشتری را به پارامترهای محیطی دادند، ولی علی رغم اعمال مدیریت های بهداشتی کامل، برخی از استرس ها مثل استرس هنگام انتقال لاروهای میگو، از هچری به مزرعه اجتناب ناپذیر می باشد. علاوه بر این میگوها ممکن است در مزرعه تحت تأثیر استرس هایی بر اثر شرایط آب و هوایی و یا مشکلات پیش بینی نشده ای در آب ورودی قرار گیرند. در حال حاضر در چنین شرایطی، پرورش دهندگان میزان غذادهی را کاهش داده و با تجویز آنتی بیوتیک تلاش می کنند که میزان باکتری های فرصت طلب در استخر را کاهش دهند. در این وضعیت ترجیح داده می شود که مکانیسم دفاعی موجود در بدن میگو را به گونه ای بهینه کرد که بتواند به خوبی در برابر عفونت های فرصت طلب مقاومت نماید. برای کارآمد بودن هر روش کنترلی در مدیریت بیماری باید بکارگیری آن روش بخشی از سیستم مدیریت بهداشتی جامعی باشد که در استخر اعمال می شود. برخی از سیستم های موجود پیشرفته بوده و نیاز به امکانات عالی و اکولوژیک مناسبی دارند. محرک های سیستم ایمنی می توانند نقش مهمی در چنین سیستم هایی بازی کنند.

مطالعات وسیعی بر روی گونه های مختلف جلبک های قرمز و قهوه ای و تاثیر عصاره حاصل از این جلبک ها بر شاخص های خونی- ایمنی و افزایش مقاومت گونه های مختلف ماهی و میگو در برابر بیماری های باکتریایی و ویروسی انجام گرفته است. یکی از جلبک هایی که علاوه بر پزشکی، در دامپزشکی و آبزی پروری نیز مورد توجه و بررسی قرار گرفته است، جنس Sargassum می باشد، از عصاره محلول در آب داغ این جلبک و سایر جلبک های قهوه ای، پلی ساکاریدِ سولفاته ای استخراج می شود که قند اصلی آن Fucose می باشد این قند یک منوساکارید غیر معمول است و به صورت ایزومر L-fucose در تعدادی از ترکیبات موکوپلی ساکاریدی و موکوپروتئینی حضور دارد (Zhu و همکاران ۲۰۰۳). دو جنس Sargassum و Padina در بین جلبک های قهوه ای موجود در سواحل استان بوشهر، بیشترین فراوانی را داشته و از این رو برای این مطالعه مورد نظر قرار گرفتند. در سال ۱۹۹۸ Hashino و همکارانش از عصاره آب گرم *Sargassum horneri* پلی ساکارید سولفاته استخراج کردند که قند اصلی آن فوکوز است و دارای خاصیت ضد ویروس قوی بر علیه ویروس های هرپس سیمپلکس تیپ یک، سیتومگالوویروس و ویروس ایدز می باشد نکته جالب توجه

Archive of SID

این اســت که برخلاف ترکیبات ضد ویروســی دیگر، ایــن ترکیب علاوه بــر مهار عفونت ویروســی در مراحل اولیه و جلوگیــری از نفوذ و اتصال ویروس به داخل ســلول، پــس از ورود ویروس به ســلول میزبان نیز اثر ضد ویروســی خود را اعمال می کند. مطالعات اخیر نشــان می دهد که این ترکیبات ســولفاته تاثیر بســیار خوبی در پیشــگیری از عفونت های ویروســی میگو از جمله بیماری لکه ســفید در میگوهای پرورشــی دارد. Itami و همــکاران در ســال ۲۰۰۲ از جلبک قهوه ای *Cladosiphan okamuranus*، فوکوئیدان اســتخراج کردند و از آن در تغذیه میگوی Kuruma اســتفاده کردند و ۴ روز پس از اولین سری غذادهی میگو ها را در سوسپانســیونی از ویروس لکه سفید غوطه ور کردند و اعلام نمودند که دوز بالای فوکوئیدان در پیشــگیری از بیماری لکه ســفید ویروســی مؤثرتــر می باشــد. در مطالعه که توســط Chotigeat و همکاران در ســال ۲۰۰۴ انجام پذیرفت اعلام شد که اســتفاده خوراکی از فوکوئیدان استخراج شده از جلبک *Sargassum polycystum* در کاهش ابتلاء میگوهای پرورشی به بیماری لکه سفید موثر است. Yeh و همکارانش در ســال ۲۰۰۵ از عصاره آب گرم جلبک *Sargassum duplicatum* به صورت غوطه وری و تزریقی برای تحریک سیســتم ایمنی میگوی وانامی آلوده به *V.alginoliticus* اســتفاده کردند و سیســتم ایمنی میگو را از طریق بررســی تعداد هموســیت های کل، انفجار تنفسی، سیتم پروفنل اکســیداز و فعالیت فاگوسیتی هموســیت ها مورد مطالعه قرار دادند و بر اســاس گزارش آنها عصاره این جلبک، ســبب تحریک سیســتم ایمنی و افزایش بازماندگی میگوهای آلوده در مقایســه با گروه شــاهد می گردد. یافته های مطالعه حاضر با نتایج اعلام شــده از سوی Yah و همکارانش مطابــق دارد گرچه میزان افزایش فاکتورهای ایمنی تعیین شــده اندکی کمتر از میزان تعیین شده توسط Yah و همکارانش می باشد.

در اکثــر مطالعات انجام شــده بر روی تأثیر فاکتورهــای مختلف بر شــاخص های ایمونولوژیک در ســخت پوســتان و به ویژه در میگوها، دو شاخصِ تعداد هموسیت کل و میزان پروتئین کل پلاسما دارای بیشترین تغییــرات بوده و آیینه تمام نمایــی از برهمکنش جانور با محیط پیرامون خود و نشان دهنده وضعیت فیزیولوژیک جانور در پاسخ به استرس های مختلف محیطی می باشــند (Sanchez و همــکاران ۲۰۰۱). از این رو محققینِ مختلف بر اســاس یافته های چند ســاله خــود در خصوص هر گونــه از میگوهای پرورشــی، اقدام به تعیین دامنهٔ قابــل قبول برای این دو شــاخص نموده اند و بر اســاس آن بجای بیان کیفیِ وضعیت سلامتی میگوها، از این دو شــاخصِ کمی استفاده می نمایند. گرچه نتایج حاصل از این مطالعه با مطالعات مشابه همخوانی دارد و لی مشاهده می شود که در بعضی موارد میزان شاخص های ایمنی اندازه گیری شده در میگوهای شــاهد، کمتر از موارد گزارش شده در مطالعات مشابه می باشد. با توجه به انجام مکرر و دقیق پروتکل مربوط به هر کدام از این روش ها، می توان به این نتیجه رســید که برخی از فاکتورهای فیزیکی یا شــیمیایی مانند شوری، بعنوان یک اســترس بر فرآیندهای فیزیولوژیکِ سازش پذیری و ســازگاری جانور با محیط پیرامون خود اثر گذاشته و موجب بروز چنین کاهشی شده اند. اگرچه در طول انجام آزمایش تلاش شد که فاکتورهای قابل کنترل مانند شــوری، اکسیژن، دمای آب و دمای هوای سالن، رژیم نوری و مرحلهٔ پوست اندازی (Rodrıguez و moullac، ۲۰۰۰) ثابت و یکســان باشد. باتوجه به اینکه شوری آب دریا در سواحل استان بوشهر در حدود ۴۰ قسمت در هزار می باشد، در مراحل اجرایی این پروژه نیز از آب فیلتر شــده دریا با همان شوری طبیعی استفاده گردید تا با اطمینان بیشــتری بتوان نتایج بدست آمده را به شرایط طبیعیِ منطقه تعمیم داد. این میزان شوری (۳۸ تا ۴۱ قسمت در هزار) خود به عنوان یک استرس محسوب می شود.

پوست اندازی پدیده ای است که در بسیاری از گونه های بی مهرگان از جمله ســخت پوســتان اتفاق می افتد. در این پدیده، پوسته فرسوده و قدیمی، از بدن جانور جدا شــده و کوتیکول نو جایگزین آن می شــود. این پدیده برای رشــد پســت لاروها در تمامی مراحــل زندگی، فرآیندی ضروری می باشــد. در یک جانور ســالم چرخه پوست اندازی چندین بار در طول حیات آن انجام می شــود، تا جانور بتواند رشــد نماید. در روند پوســت اندازی تغییرات معنی داری در ساختار بدن، فیزیولوژی، بیولوژی و رفتارشناســی جانور مشــاهده می شــود، لذا در مطالعات فیزیولوژیک و سیســتم ایمنــی از میگوهایی اســتفاده می شــود کــه در یک مرحله پوســت اندازی باشند. معیارهای گوناگونی به منظور مرحله بندی فرآیند پوســت اندازی مورد استفاده قرار گرفته است، ولی آنچه که امروزه به آن بیش از سایر مطالعات استناد می شود تغییر در بخش های زاینده خارها (Drach، ۱۹۳۹) مــی باشــد. در این مطالعه نیــز از کلید تصویری ارائه شــده در مطالعه Promwikorn (۲۰۰۴) که بر اساس معیار های بیان شــده توسط Drach تهیه شده است. با توجه به ثبات بیشتر فاکتورهای فیزیولوژیک و ایمنی در مرحله C پوســت انــدازی، در این مطالعه نیز از میگوهایی که در مرحله C یعنی مرحله بین دو پوســت اندازی اســتفاده گردید.

در خصوص اســتفاده از محرک های سیستم ایمنی باید به این نکته کلیدی و مهم توجه کرد که محرک‌های سیستم ایمنی مانند یک شمشیر دو لبه بوده و در صورت استفاده غیرتخصصی و خارج از برنامه مقداری از انرژی جاندار که باید برای افزایش وزن صرف شــود با بالا بردن بی مورد ســطح ایمنی جاندار به هدر می رود. با توجه به این مورد در این مطالعه تلاش بر این بود که کمترین میزان تحریک سیستم ایمنی که در افزایش مقاومت در برابر بیماری لکه سفید مؤثر می باشد تعیین گردد.

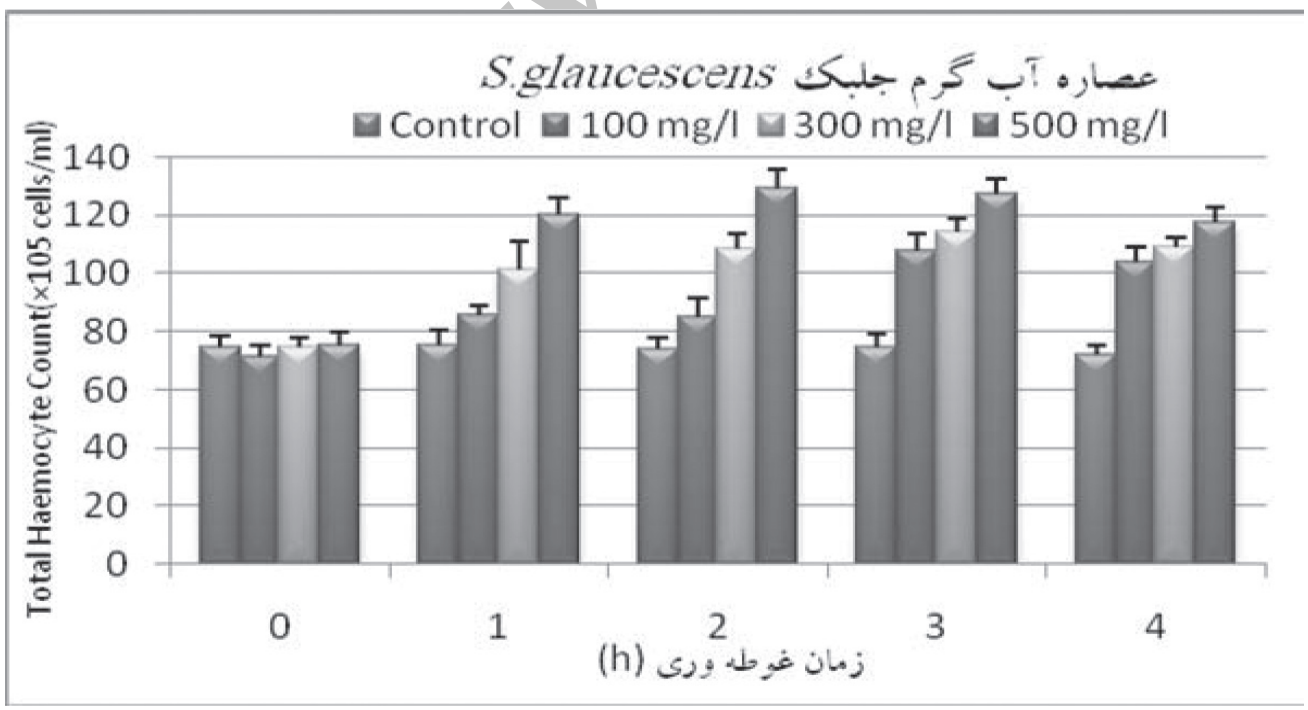
بایــد توجه نمود که جلبکها توانایــی جذب و تجمع بیولوژیک برخی مواد و فلزات ســنگین مانند ســرب، کادمیوم، مس، نیکل و جیوه را دارا بوده و می توانند اشــکال گوناگون فلزات سنگین را از طریق متیلاسیون جــذب نموده و آنها را از محیط حذف نمایند (Tsui و همکاران ۲۰۰۶). مطالعاتی فراوانی بر روی این گونه جلبک بعنوان شــاخص زیستی فلزات در داخــل (برخــوردار و غیاث الدین۱۳۸۳؛ ســعیدی و همکاران ۱۳۸۶) و خــارج از کشــور(Zolotukhina و Radzhinskaya، ۱۹۹۵؛ Dulymamode و همکاران ۲۰۰۱) انجام شــده است. با توجه به اثرات نامطلوب و اثبات شده فلزات سنگین، بر کارآیی سیستم ایمنیِ میگوهای پرورشــی (Lorenzon و همکاران ۲۰۰۱)، و بــا توجه به نتایج حاصل از مطالعــه امیدی در ســال ۱۳۷۹که در آن میانگین ســالانه ســرب در آب های ســاحلی اســتان بوشــهر را ۳/۲۵ میکروگرم در لیتر اعلام کرده اســت، در این مطالعه اقــدام به اندازه گیری میزان فلز ســرب در عصاره آب گــرم تهیه شــده از جلبک *S.glaucescens* گردیــد. دلیل این کار

Archive of SID

این بود که در مطالعه Lorenzon و همکاران تأثیر مواجهه کوتاه مدت (۹۶ ساعت) با فلزات سنگین مورد بررسی قرار گرفته است. در مطالعه آنها مشخص شد که غوطه ور ساختن میگوهای *Palaemon elegans* در آب دریای حاوی حاوی جیوه، کادمیوم، مس، کروم، روی و سرب به مدت ۸ ساعت، موجب کاهش در تعداد هموسیت ها (هموسایتوپنی) می شود و در بین فلزات مورد مطالعه، سرب بیشترین تأثیر را نشان داده است. البته آنها اعلام نمودند که پس از ۱۶ ساعت غوطه وری، تعداد هموسیتها به زمان صفر، یعنی به مقدار اولیه، بازگشته است. علاوه بر این آنها بیان کردند که پس از سرب، به ترتیب روی، جیوه، کروم و کادمیوم در این خصوص بیشترین تأثیر را بر روی تعداد THC نشان می دهد. نتایج اندازه گیریهای انجام شده در آزمایشگاه بهار افشان تهران و به روش Nadafi و همکاران ۲۰۰۷ نشان داد که میزان تجمع فلز سرب در نمونه تهیه شده از جلبک *S.glaucescens* ۲۲/۳ میلی گرم بر گرم می باشد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که غوطه ور ساختن میگوهای سفید هندی در ۳۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره آب گرم جلبک *S.glaucescens* به مدت ۲ الی ۳ ساعت، در افزایش میزان TPP، THC و فعالیت فاگوسیتوزی مؤثر باشد. علاوه بر این غوطه وری به مدت ۳ ساعت در ۱۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر از عصاره جلبک *S.glaucescens*، در افزایش میزان بازماندگی میگوهای سفید موثر است.

**جدول ۳- تعداد هموسیت کل(×۱۰۵cell/ml) در میگوی سفید هندی برحسب زمان غوطه وری در عصاره آب گرم جلبک *S. glaucescens***

| غلظت های غوطه وری (mg/l) | تعداد هموسیت کل(×۱۰$^5$cell/ml) و زمان غوطه وری (h) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | ۰ | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ |
| شاهد | ۷۴/۳۶±۴/۰۰ | ۷۵/۳۶±۴/۹۵ | ۷۴/۰۳±۳/۵۱ | ۷۴/۴۳±۴/۸۵ | ۷۱/۸۳±۳/۱۷ |
| ۱۰۰ | ۷۱/۳۳±۳/۹۶ | ۸۵/۳۶±۳/۴۲ | ۸۵/۰۳±۵/۹۵ | ۱۰۷/۵۳±۵/۹۵ | ۱۰۳/۸۶±۵/۳۶ |
| ۳۰۰ | ۷۴/۵۶±۳/۴۰ | ۱۰۱/۴۰±۹/۴۳ | ۱۰۸/۶۶±۴/۹۰ | ۱۱۴/۳۳±۴/۴۵ | ۱۰۸/۹۰±۳/۶۷ |
| ۵۰۰ | ۷۵/۱۰±۴/۴۹ | ۱۲۰/۱۶±۵/۷۸ | ۱۲۹/۳۰±۶/۳۹ | ۱۲۷/۰۳±۵/۷۴ | ۱۱۷/۷۶±۴/۸۵ |

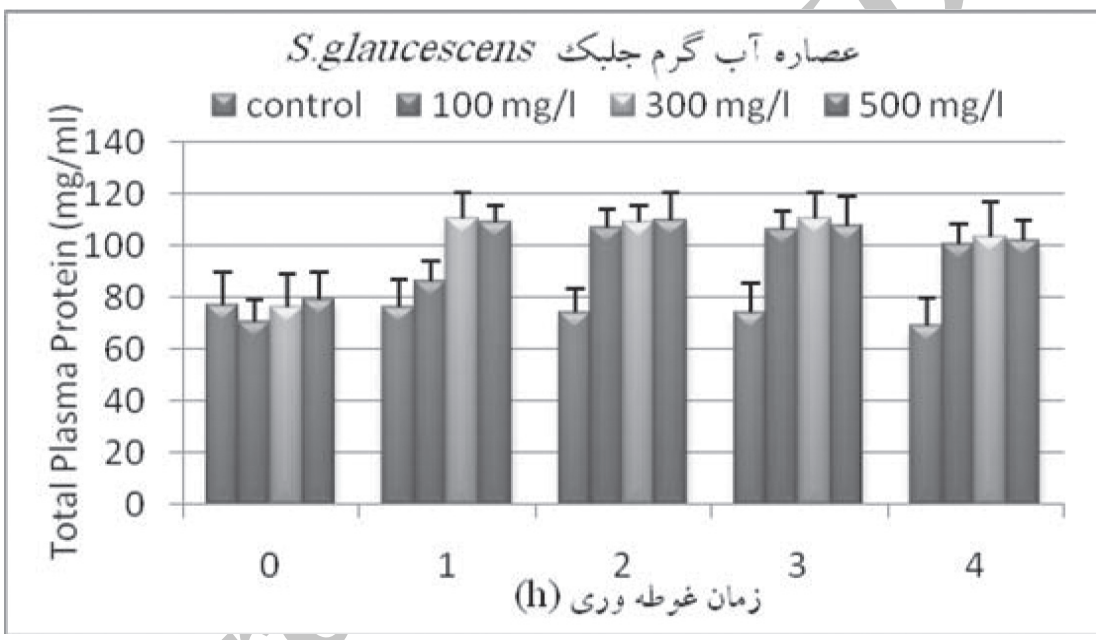



**نمودار ۱- تعداد هموسیت کل(×۱۰$^5$cell/ml) در میگوی سفید هندی برحسب زمان غوطه وری در عصاره آب گرم جلبک*S.glaucescens***


www.SID.ir

جدول ۴- پروتئین پلاسمای کل(mg/ml) در میگوی سفید هندی برحسب زمان غوطه وری در عصاره آب گرم جلبک *S.glaucescens*

| غلظت های غوطه وری (mg/l) | پروتئین پلاسمای کل(mg/ml) و زمان غوطه وری (h) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | ۰ | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ |
| شاهد | ۷۷/۱۶±۱۲/۳۵ | ۷۶/۳۷±۱۰/۵۳ | ۷۳/۸۵±۹/۴۲ | ۷۴/۲۲±۱۰/۹۳ | ۶۹/۱۶±۱۰/۸۶ |
| ۱۰۰ | ۷۰/۷۳±۸/۱۴ | ۸۶/۵۴±۷/۸۸ | ۱۰۷/۱۲±۷/۰۹ | ۱۰۶/۵۸±۷/۰۹ | ۱۰۰/۷۴±۷/۳۵ |
| ۳۰۰ | ۷۶/۱۰±۱۲/۹۷ | ۱۱۰/۸۵±۹/۷۲ | ۱۰۸/۹۰±۶/۴۷ | ۱۱۰/۵۹±۹/۷۹ | ۱۰۳/۷۳±۱۳/۰۶ |
| ۵۰۰ | ۷۸/۷۹±۱۱/۰۱ | ۱۰۸/۸۲±۶/۶۵ | ۱۱۰/۱۱±۱۰/۷۵ | ۱۰۷/۶۳±۱۱/۷۴ | ۱۰۲/۱۷±۷/۷۸ |




نمودار ۲- پروتئین پلاسمای کل(mg/ml) در میگوی سفید هندی برحسب زمان غوطه وری در عصاره آب گرم جلبک *S.glaucescens*

جدول ۵- فعالیت فاگوسیتی (درصد) در میگوی سفید هندی برحسب زمان غوطه وری در عصاره آب گرم جلبک *S.glaucescens*

| غلظت های غوطه وری (mg/l) | فعالیت فاگوسیتی (درصد) و زمان غوطه وری (h) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | ۰ | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ |
| شاهد | ۱۰/۲۴±۱/۸۳ | ۱۰/۱۸±۱/۶۵ | ۹/۸۵±۱/۶۴ | ۱۰/۶۵±۱/۶۴ | ۱۰/۲۷±۱/۴۵ |
| ۱۰۰ | ۹/۶۲±۱/۵۶ | ۱۰/۰۳±۲/۰۴ | ۱۲/۴۶±۰/۶۴ | ۱۶/۱۳±۲/۴۸ | ۱۶/۹۶±۲/۳۷ |
| ۳۰۰ | ۱۰/۳۶±۲/۱۹ | ۱۱/۷۰±۲/۰۷ | ۱۶/۸۷±۲/۲۷ | ۱۸/۹۵±۱/۶۱ | ۱۸/۶۹±۱/۱۸ |
| ۵۰۰ | ۱۰/۰۶±۱/۴۷ | ۱۲/۰۱±۲/۲۳ | ۱۶/۷۱±۱/۶۷ | ۱۸/۰۲±۱/۷۶ | ۱۸/۵۱±۲/۶۲ |


نشریه دامپزشکی www.SID.ir

جدول ۶- میزان بازماندگی میگوهای سفید هندی (*F. indicus*) مواجهه داده شده با ویروس لکه سفید، پس از ۳ ساعت غوطه وری در آب دریای هوادهی شدهٔ حاوی عماره آب گرم جلبک *S. glaucescens* (در هر خانه در سطر بالا میانگین درصد بازماندگی در سه تکرار مربوط به یک تیمار و در سطر پایین تعداد میگوی زنده در هر تکرار ارائه شده است).

| عماره آب گرم mg/l | تعداد میگوها | زمان سپری شده پس از مواجهه (روز) میزان بازماندگی (درصد) و تعداد میگوهای زنده در هر تکرار | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ۴ | ۵ | ۶ | ۷ | ۸ | ۹ | ۱۰ | ۱۱ | ۱۲ | ۱۳ | ۱۴ |
| شاهد منفی (saline) | ۳ × ۱۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۹۶/۷±۵/۸ (۱۰ و ۹،۱۰) | ۹۶/۷±۵/۸ (۱۰ و ۹،۱۰) | ۹۶/۷±۵/۸ (۱۰ و ۹،۱۰) | ۹۶/۷±۵/۸ (۱۰ و ۹،۱۰) | ۹۶/۷±۵/۸ (۱۰ و ۹،۱۰) | ۹۶/۷±۵/۸ (۱۰ و ۹،۱۰) |
| شاهد مثبت (virus) | ۳ × ۱۰ | ۱۰۰ | ۹۶/۷±۵/۸ (۹ و ۱۰،۱۰) | ۹۰±۱۰ (۹ و ۱۰،۸) | ۹۰±۱۰ (۹ و ۱۰،۸) | ۸۶±۵/۸ (۹ و ۹،۸) | ۷۶/۷±۱۱/۵ (۹ و ۷،۷) | ۶۶/۷±۲۰/۸ (۹ و ۶،۵) | ۶۰±۱۰ (۷ و ۶،۵) | ۵۶/۷±۵/۸ (۶ و ۶،۵) | ۵۳/۳±۵/۸ (۵ و ۶،۵) | ۴۰±۱۰ (۳ و ۵،۴) |
| ۱۰۰ | ۳ × ۱۰ | ۱۰۰ | ۹۶/۷±۵/۸ (۱۰ و ۹،۱۰) | ۹۶/۷±۵/۸ (۱۰ و ۹،۱۰) | ۹۳±۵/۸ (۱۰ و ۹،۹) | ۹۰±۱۰ (۱۰ و ۹،۸) | ۸۶/۷±۵/۸ (۹ و ۹،۸) | ۸۰/۷±۱۰ (۹ و ۷،۸) | ۷۳/۳±۵/۸ (۸ و ۷،۷) | ۷۳/۳±۵/۸ (۸ و ۷،۷) | ۶۳/۳±۵/۸ (۶ و ۶،۷) | ۶۳/۳±۵/۸ (۶ و ۶،۷) |
| ۳۰۰ | ۳ × ۱۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۹۳/۳±۱۰ (۹ و ۹،۱۰) | ۹۰±۰ (۹ و ۹،۹) | ۸۳/۳±۵/۸ (۸ و ۸،۹) | ۸۰±۱۰ (۷ و ۸،۹) | ۸۰±۱۰ (۷ و ۸،۹) |
| ۵۰۰ | ۳ × ۱۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۸۶/۷±۵/۸ (۸ و ۸،۹) | ۸۰±۰ (۷ و ۸،۹) | ۷۶/۷±۵/۸ (۷ و ۸،۹) |

## تشکر و قدر دانی

از کلیــه همــکاران مؤسســه تحقیقات شــیلات ایران آقایــان دکتر عیســی شریف پور و دکتر مصطفی شــریف روحانی که با راهنمایی های خردمندانــه خود به انجام هر چه بهتر ایــن پروژه کمک کردند صمیمانه تشــکر نمــوده و از تمامی همــکاران پژوهشــکده میگوی کشــور بویژه خانم ها فاطمه محسنی زاده و پریسا حسین خضری و آقایان قاسم غریبی، نظرا... فاطمی، رسول حاجی زاده، سیاوش صفرپور، مهران ارشد و حسین رشید زاده که زحمات زیادی را در عملیاتی شدن این پروژه متقبل شدند و همچنیــن از آقای مهندس قرنجیک، همکار ارجمند در مرکز تحقیقات شیلاتی آبهای دور، که تعیین گونهٔ جلبکهای مورد بررسی را انجام دادند، تشــکر و سپاسگزاری می شــود و همچنین یاد و خاطره دوست و همکار پرتلاش خود، در پژوهشــکده میگوی کشــور، مرحوم مختارحق نجات را گرامی می داریم.

## منابع مورد استفاده

۱- امیدی، س. (۱۳۷۹) بررسی میزان فلزات سنگین در آب های ساحلی استان بوشهر. مجله علمی شیلات، سال نهم، شماره ۳، صفحات ۳۵ تا ۴۸.

۲- برخوردار، ب. غیاث الدین، م. (۱۳۸۳) بررســی ظرفیت جلبک سارگاسوم در جذب کروم، نیکل و مس. زیســت علوم و تکنولوژی محیط، شماره ۲۱، صفحات ۱۱ تا ۱۹.

۳- ســعیدی، ر. ندافــی،ک. نبــی زاده نودهی، ر. (۱۳۸۷) بیوجذب ســرب (II) و کادمیــوم (II) از محیــط های آبی بوســیله جلبک قهوه ای سارگاســوم مجله دانشــکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، جلد ۲، شماره ۵، صفحات ۱۳ تا ۲۴.

4- Acharya S., J. Mohanty J., Sahoo P.K., (2004) Humoral defence factors in Indian river prawn, *Macrobrachium malcolmsonii*. *Fish & Shellfish Immunology* 17, 137-147

5- Bachère, E. (2000) Shrimp immunity and disease control. *Aquaculture* 191, 3-11.

6- Barkhordar, B. and Ghiasseddin M., (2004) The study of Sargassum capacity to absorb Cr, Ni and Cu., *J.Env.Sci. Tech.*, No.21.

7- Bauchau, A. G. (1981) *Crustaceans*. In: Ratcliffe N. A. and Rowley, A. F. (editors). Invertebrate blood cells. Academic Press, London and New York, pp. 385-420.

8- Chotigeat W.; Tongsupa S.; Supamataya K. and Phongdara A. (2004) Effect of Fucoidan on Disease Resistance of Black Tiger Shrimp., *Aquaculture Volume* 233, Issues 1-4, Pages 23-30.

9- Drach, P. (1939) Mue et cycle d'intermue chez les crustaces Decapodes. *Annls. Inst. Oceanogr*. 19: 103-391.

10- Dulymamode, R. Sukhoo, N. Bhugun, I. (2001) Evaluation of *Padina boergesenii* (Phaeophyceae) as a bioindicator of heavy metals. *South African Journal of Botany*. 67, 3: 460- 464.

11- Hoshino T., et al., (1988) An antiviral active sulfated

Archive of



www.SID.ir

42(11). Nr. 10

19- Rodrıguez, J., Moullac G.L., (2000) State of the art of immunological tools and health control of penaeid shrimp. *Aquaculture* 191, 109–119.

20- Sanchez, A., Pascual, C., Sa´nchez, A., Vargas-Albores, F., Le Moullac, G., Rosas, C., (2001) Hemolymph metabolic variables and immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: the effect of acclimation. *Aquaculture* 198, 13– 28.

21- Soderhall, K. and Cerenius, L. (1992) *Crustacean immunity*. *Annual Review of Fish Diseases*, 2, 3- 23.

22- Soderhall, K., Aspan, A. and Duvic, B. (1990) The proPO-system and associated proteins; role in cellular communication in arthropods. *Research Immunology* 141, 896-907.

23- Tsui, M.T.K, Cheung K.C., Tam N.F.Y, WongM.H. (2006) A comparative study on metal sorption by brown seaweed. *Chemosphere* 65: 51–57.

24- Yeh, M. S., Chen, Y. L. and Tsai, I. H. (1998) The hemolymph clottable proteins of tiger shrimp, *Penaeus monodon*, and related species. *Comparative Biochemistry and Physiology* 121B, 169-176.

25- Zhu W.; Ooi W. E. C.; Chan P. K. S.; and Ang P.O., (2003) *Isolation and characterization of a sulfated polysaccharide from the brown alga Sargassum patens and determination of its anti-herpes activity*., NRC Canada.

36- Zolotukhina, E.Yu. and Radzhinskaya, N.V. (1995) Macroalgae as heavy metal monitors in Black Sea littoral ecosystems. *OCEANOLOGY*, English Translation 35, No, 3: 400-403.

polysaccharide from *Sargassum horneri.*, *C.Agard Biol pharm Bull*.,21, pp: 730-734.

12- Itami T., (2002) *Promising strategies against WSSV for kuruma shrimp in Japan*., SEAFDEC Asian Aquaculture., Volume XXIV Number 3.

13- Jiang, G., Yua R., Zhoua M., (2004) Modulatory effects of ammonia-N on the immune system of Penaeus japonicus to virulence of white spot syndrome virus. *Aquaculture* 241, 61-75.

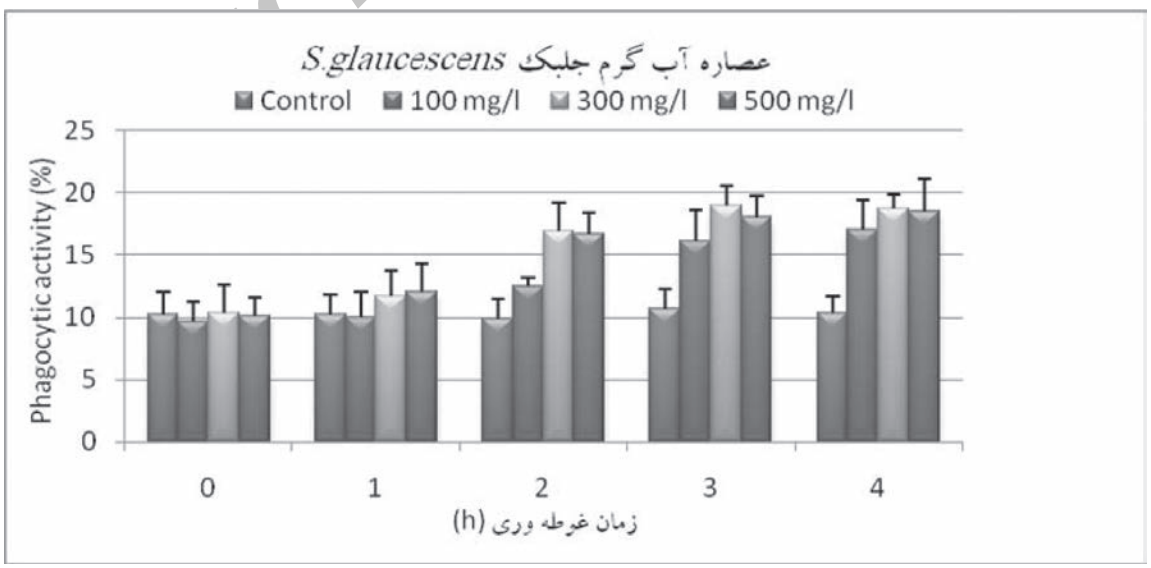
14- Liu C.H, Chen J.C, (2004) Effect of ammonia on the immune response of white rimp Litopenaeus vannamei and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus. Fish & Shellfish immunology*, 16:321-34.

15- Lorenzon S., Francese M., Smith V.J. and Ferrero E.A. (2001) Heavy metals affect the circulating haemocyte number in the shrimp *Palaemon elegans. Fish & shellfish immunology* 11, 459-472.

16- Naddafi K., Ramin Nabizadeh R., Reza Saeedi R., Mahvi A.H., Vaezi F., Yaghmaeian K., Ghasri A., Nazmara S. (2007) Biosorption of lead (II) and cadmium (II) by protonated *Sargassum glaucescens* biomass in a continuous packed bed column. *Journal of Hazardous Materials* 147, pp. 785–791.

17- Promwikorn W., Kirirat P. and Thaweethamsewee, P., (2004) Index of molting staging in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*), *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 26(5): 765-72.

18- Raa, J., Rtwstad, G., Engstad, R. and Robertsen, B. (1992) *The use of immunostimulants to increase resistance of aquatic organisms to microbial infections.* In: Diseases in Asian Aquaculture (I. M. Shariff, R. P. Subasinghe and J. R. Arthus, eds.), p. 39-50. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. Res.




**نمودار ۳- فعالیت فاگوسیتی (درصد) در میگوی سفید هندی برحسب زمان غوطه وری در عصاره آب گرم جلبک *S.glaucescens***



Archive of SID
www.SID.ir